

①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ Offenlegungsschrift
⑪ DE 3409793 A1

⑤ Int. Cl. 3:
A61K 31/23
A 61 K 31/20
A 61 K 9/10

②1 Aktenzeichen: P 34 09 793.7
②2 Anmeldetag: 16. 3. 84
④3 Offenlegungstag: 20. 9. 84

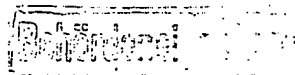
DE 3409793 A1

③0 Unionspriorität: ③2 ③3 ③1
18.03.83 JP P45618-83

⑦1 Anmelder:
Terumo K.K., Tokio/Tokyo, JP

⑦4 Vertreter:
Henkel, G., Dr.phil., 8000 München; Pfenning, J.,
Dipl.-Ing., 1000 Berlin; Feiler, L., Dr.rer.nat.; Hänzel,
W., Dipl.-Ing., 8000 München; Meinig, K.,
Dipl.-Phys.; Butenschön, A., Dipl.-Ing. Dr.-Ing.,
Pat.-Anw., 1000 Berlin

⑦2 Erfinder:
Wakabayashi, Toshio, Tama, Tokio/Tokyo, JP;
Okamoto, Kazuo, Fuchu, Tokio/Tokyo, JP;
Kanazawa, Akio, Kagoshima, JP



Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤4 Flüssige Emulsion zur Transfusion

Es wird eine verbesserte flüssige Emulsion zur Transfusion beschrieben. Die erfindungsgemäße Emulsion enthält eine Fettsäure mit 20 bis 22 Kohlenstoffatomen oder einen Ester der Fettsäure oder eine Mischung aus zwei oder mehreren der Fettsäuren oder Ester, ein Pflanzenöl, einen Emulgator und Wasser. Diese Zubereitung ist eine flüssige Emulsion zur Transfusion, die aufgrund ihrer Fettsäurezusammensetzung eine wertvolle Nahrungsergänzung ist, und besitzt anti-thrombotische und antiarteriosklerotische Wirkung.

DE 3409793 A1

BEST AVAILABLE COPY

3409793

Henkel, Pfenning, Feiler, Hänzle & Meinig

Patentanwälte

European Patent Attorneys
Zugelassene Vertreter vor dem
Europäischen Patentamt

Dr. phil. G. Henkel, München
Dipl.-Ing. J. Pfenning, Berlin
Dr. rer. nat. L. Feiler, München
Dipl.-Ing. W. Hänzle, München
Dipl.-Phys. K. H. Meinig, Berlin
Dr. Ing. A. Butenschön, Berlin

Mohlsstraße 37
D-8000 München 80

Tel. 089/982085-87
Telex 0529802 hnkl d
Telegramm ellipsoid
Telefax (Gr. 2+3)
089/981426

NP-8114-3

Terumo Kabushiki Kaisha trading as Terumo Corporation,
Tokio, Japan

Flüssige Emulsion zur Transfusion

Patentansprüche

1. Flüssige Emulsion zur Transfusion enthaltend eine Fettsäure mit 20 bis 22 Kohlenstoffatomen oder einen Ester der Fettsäure oder eine Mischung von zwei oder mehreren der Fettsäuren und der Ester, ein Pflanzenöl, einen Emulgator und Wasser.
2. Flüssige Emulsion zur Transfusion nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Fettsäure oder der Ester eine ungesättigte Fettsäure oder ein Ester davon ist.
3. Flüssige Emulsion zur Transfusion nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die ungesättigte Fettsäure oder der Ester Eicosapentaensäure, Docosahexaensäure oder ein

Ester davon ist.

4. Flüssige Emulsion zur Transfusion nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Mischung der Fettsäuren und/oder der Ester ein gereinigtes Fischöl ist.

5. Flüssige Emulsion zur Transfusion nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß das gereinigte Fischöl gereinigtes Sardinenöl ist.

6. Flüssige Emulsion zur Transfusion nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß das Pflanzenöl gereinigtes Sojabohnenöl und/oder Safloröl ist.

7. Flüssige Emulsion zur Transfusion nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß sie 5 bis 20 w/v (Gewicht/Volumen) % der Fettsäure oder des Esters oder der Mischung, 1 bis 19 w/v % des Pflanzenöls, 1 bis 2 w/v % des Emulgators und Wasser (als Rest) enthält.

Die vorliegende Erfindung betrifft eine verbesserte flüssige Emulsion zur Transfusion.

Insbesondere betrifft sie eine in der Fettzusammensetzung gut ausgewogene flüssige Emulsion zur Transfusion.

Die flüssige Emulsion zur Transfusion wird Patienten zur Nahrungsergänzung verabreicht. Sie wird gewöhnlich intravenös durch Tropfeninfusion eingeführt.

Die flüssige Emulsion zur Transfusion ist eine Emulsion aus Fett, einem Emulgator und Wasser. Aus dem Stand der Technik bekannte flüssige Emulsionen zur Transfusion verwenden Pflanzenöl wie z. B. gereinigtes Sojabohnenöl. Obgleich Pflanzenöle reich an Fettsäuren mit 18 oder weniger Kohlenstoffatomen, wie z. B. an Ölsäure, Palmitinsäure, Linolsäure, Linolensäure und Stearinsäure sind, enthalten sie keine Fettsäuren mit 20 oder mehr Kohlenstoffatomen. Im menschlichen Blut und den Zellen sind jedoch auch Fettsäuren mit 20 oder mehr Kohlenstoffatomen, wie z. B. Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure, in beträchtlichen Mengen enthalten, so daß die flüssigen Emulsionen zur Transfusion nach dem Stand der Technik, die als Fettkomponente nur Pflanzenöl enthalten, ernährungsmäßig nicht ausgewogen und unzureichend sind.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, eine verbesserte flüssige Emulsion (Fettemulsion) zur Transfusion bereitzustellen, die ernährungsmäßig gut ausgewogen ist.

Eine weitere Aufgabe der Erfindung ist es, eine flüssige Emulsion zur Transfusion bereitzustellen, die antithrombotische Wirkung besitzt.

Als Ergebnis ausgedehnter Untersuchungen konnte mit Erfolg eine flüssige Emulsion zur Transfusion hergestellt werden,

die eine oder mehrere Fettsäuren mit 20 bis 22 Kohlenstoffatomen oder Ester davon, wie z. B. Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure oder deren Ester, enthält und es wurde gefunden, daß diese flüssige Emulsion zur Transfusion eine antithrombotische Wirkung besitzt.

Gemäß der vorliegenden Erfindung wird eine flüssige Emulsion zur Transfusion bereitgestellt, enthaltend eine Fettsäure mit 20 bis 22 Kohlenstoffatomen oder einen Ester davon oder eine Mischung von 2 oder mehreren der Fettsäuren und der Ester, ein Pflanzenöl, einen Emulgator und Wasser.

Gemäß der Erfindung wird weiters eine flüssige Emulsion zur Transfusion bereitgestellt, worin die oben genannte Fettsäure oder der Ester eine ungesättigte Fettsäure oder ein Ester davon ist.

In einer weiteren erfindungsgemäßen Ausführungsform wird eine flüssige Emulsion zur Transfusion bereitgestellt, worin die oben genannte Fettsäure oder der Ester Eicosapentaensäure, Docosahexaensäure oder ein Ester davon ist.

Gemäß einer weiteren Ausführungsform der Erfindung wird eine flüssige Emulsion zur Transfusion bereitgestellt, worin die oben genannte Mischung aus Fettsäuren oder Estern ein gereinigtes Fischöl ist.

Gemäß einer weiteren erfindungsgemäßen Ausführungsform wird eine flüssige Emulsion zur Transfusion bereitgestellt, worin das oben genannte gereinigte Fischöl gereinigtes Sardinenöl ist.

Gemäß einer weiteren erfindungsgemäßen Ausführungsform wird eine flüssige Emulsion zur Transfusion bereitgestellt, worin das oben genannte Pflanzenöl gereinigtes Sojabohnenöl und/

oder Safloröl ist.

Gemäß einer weiteren erfindungsgemäßen Ausführungsform wird eine flüssige Emulsion zur Transfusion bereitgestellt, die 5 bis 20 w/v (Gewicht/Volumen) % der oben genannten Fettsäure oder des Esters oder der Mischung davon, 1 bis 19 w/v % eines Pflanzenöls, 1 bis 2 w/v % eines Emulgators und Wasser (als Rest) enthält.

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf eine flüssige Emulsion zur Transfusion, enthaltend eine Fettsäure mit 20 bis 22 Kohlenstoffatomen oder einen Ester davon oder eine Mischung von 2 oder mehreren der Fettsäuren oder der Ester, ein Pflanzenöl, einen Emulgator und Wasser.

Die erfindungsgemäße flüssige Emulsion zur Transfusion ist dadurch charakterisiert, daß sie eine Fettsäure mit 20 bis 22 Kohlenstoffatomen oder einen Ester der Fettsäure oder eine Mischung von zwei oder mehreren der Fettsäuren und der Ester enthält. Als erfindungsgemäß bevorzugt verwendete Fettsäuren werden Fettsäuren mit 20 bis 22 Kohlenstoffatomen, wie z. B. Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure genannt. Bevorzugte Ester dieser Fettsäuren sind die Triglyceride oder die Niederalkylester (z. B. der Äthylester). Die Ester enthalten 20 bis 22 Kohlenstoffatome im Fettsäurebestandteil. Als Glyceride der Fettsäuren können diejenigen verwendet werden, die aus Fischöl isoliert und gereinigt werden. Die Niederalkylester werden durch Umsetzung der Fettsäure mit einem niederen Alkohol auf übliche Weise hergestellt oder durch einen Esteraustausch durch Umsetzung eines Triglycerids der Fettsäure mit einem niedrigen Alkohol.

In der vorliegenden Erfindung kann auch eine Mischung von zwei oder mehreren der oben genannten Fettsäuren oder Ester davon verwendet werden. Als Mischung kann Fischöl wie z. B.

Sardinenöl, Codöl, Tintenfischöl, Makrelenöl oder Euphauciacea-öl verwendet werden, das vorzugsweise gereinigt wird, um nachteilige Reaktionen im lebenden Körper zu vermeiden. Gereinigtes Sardinenöl, das reich an Eicosapentaensäure, Docosahexaensäure und Estern dieser Säuren ist, wird als erfindungsgemäße Fettkomponente besonders bevorzugt. Aus dem Stand der Technik nicht naheliegend und überraschend wurde gefunden, daß Fischöl, wie z. B. Sardinenöl, als Komponente für die Formulierung zur intravenösen Verabreichung sicher verwendet werden kann.

Das Pflanzenöl und der erfindungsgemäß verwendete Emulgator kann irgendeines der üblichen Öle und Emulgatoren sein.

Als Pflanzenöl wird z. B. gereinigtes Sojabohnenöl, Safloröl oder dergleichen oder eine Mischung davon verwendet und gereinigtes Lecithin aus Eigelb, gereinigtes Sojabohnenlecithin oder dergleichen wird als Emulgator verwendet.

Daneben kann zu der erfindungsgemäßen flüssigen Emulsion zur Transfusion eine geeignete Menge eines Emulsionsstabilisators oder Emulsionsbeschleunigers, wie z. B. Glycerin oder Ölsäure, zugefügt werden.

Obgleich die Komponenten der erfindungsgemäßen flüssigen Emulsion zur Transfusion in jedem Verhältnis verwendet werden können, ist es bevorzugt, 5 bis 20 w/v (Gewicht/Volumen) % einer Fettsäure mit 20 bis 22 Kohlenstoffatomen oder einen Ester der Fettsäure oder eine Mischung von zwei oder mehreren der Fettsäuren und der Ester zu verwenden, 1 bis 19 w/v % eines Pflanzenöls, 1 bis 2 w/v % eines Emulgators und Wasser (als Rest). Der Emulsionsstabilisator oder Emulsionsbeschleuniger wird gewöhnlich im Bereich von 1 bis 5 w/v % verwendet.

Um eine Oxidation der ungesättigten Fettsäuren zu verhindern, kann zur erfindungsgemäßen Emulsion Vitamin E zugefügt werden. Durch die Zugabe werden Fetteilchen in der Emulsion nicht gebrochen und bleiben sehr stabil.

Die flüssige Emulsion zur Transfusion wird nach einem üblichen Verfahren hergestellt. Die vorbestimmten Mengen der Komponenten werden gemischt. Zu der Mischung wird zur Förderung der Dispersion Alkali zugefügt, und eine gleichmäßige Dispersion mittels eines Homogenisators. Zur Dispersion wird injizierbares destilliertes Wasser zugefügt, und die Mischung mittels eines Hochdruck-Sprühemulsionsapparates der Emulgierung unterworfen, um die flüssige Emulsion zur Transfusion herzustellen. Die Emulsion wird in Plastikbehälter aufgeteilt, die unter Hochdruck dampfsterilisiert werden, und im Vakuum filmverpackt, um das Endprodukt zu ergeben.

Die flüssige Emulsion zur Transfusion, die ernährungsmäßig erforderliche Fettsäuren in einem gut ausgewogenen Verhältnis enthält, ist eine ausgezeichnete Ernährungsergänzung.

Weil die flüssige Emulsion zur Transfusion Eicosapentaensäure und/oder Docosahexaensäure oder Ester davon enthält, besitzt sie eine blutplättchenaggregationshemmende Wirkung und ist auch als antithrombotisches Mittel brauchbar.

Darüber hinaus reduziert die flüssige Emulsion zur Transfusion, die Triglyceride von Fettsäuren wie z. B. Eicosapentaensäure und/oder Docosahexaensäure enthält, Blutcholesterin und ist zur Vorbeugung oder Therapie von Arteriosklerose brauchbar.

Die Erfindung wird nachfolgend durch die Beispiele und ein Testbeispiel näher beschrieben.

Beispiel 1

Eine Mischung aus 20 g Äthyl-5,8,11,14,17-eicosapentaenoat, 380 g gereinigtes Sojabohnenöl, 48 g gereinigtes Lecithin aus Eigelb, 20 g Ölsäure, 100 g konzentriertes Glycerin und 40 ml 0,1 N-Natriumhydroxid wurden mittels eines Homogenisators dispergiert. Zu der Dispersion wurde injizierbares destilliertes Wasser bis zu einem Gesamtvolumen von 4 l zugefügt. Die resultierende Masse wurde mittels eines Hochdruck-Sprühemulsionsapparates emulgiert, um eine flüssige Emulsion herzustellen. Die flüssige Emulsion wurde in Plastikbeutel in 200 ml-Portionen aufgeteilt, die unter Hochdruck bei 121°C 20 Minuten lang dampfsterilisiert wurden, um eine flüssige Emulsion zur Transfusion herzustellen. Nach der Sterilisation wurden die Behälter in orientierte Vinylonfilme (ein Produkt von UNITIKA Co., Ltd.) unter Vakuum abgepackt, um das Endprodukt zu ergeben.

Beispiel 2

Eine flüssige Emulsion zur Transfusion wurde auf die gleiche Weise wie in Beispiel 1 hergestellt, mit der Ausnahme, daß die dort verwendeten 20 g Äthyleicosapentaenoat und die 380 g gereinigtes Sojabohnenöl durch 40 g Äthyl-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoat bzw. 360 g gereinigtes Sojabohnenöl ersetzt wurden.

Beispiel 3

Eine Mischung von 120 g hochgereinigtem Sardinenöl, das 18 % 5,8,11,14,17-Eicosapentaensäure und 10 % 4,7,10,13,16,19-Docosahexaensäure enthält und die in Tabelle 1 (die ein Beispiel von Fettzusammensetzungen in gereinigten Sardinenölen ist) gezeigte Fettzusammensetzung besitzt, 280 g gereinigtes Sojabohnenöl, 48 g gereinigtes Lecithin aus Eigelb, 2,0 g Ölsäure, 100 g konzentriertes Glycerin und 40 ml 0,1 N-Natriumhydroxid wurden mittels eines Homogenisators dispergiert. Zu der Dispersion wurde injizierbares destilliertes

Wasser bis zu einem Gesamtvolumen von 4 l zugegeben. Die resultierende Masse wurde mittels eines Hochdruck-Sprühemulsionsapparates emulgiert, um eine flüssige Emulsion herzustellen, die 30 w/v % des Fischöles enthält. Die Emulsion wurde in 200 ml-Anteilen in Plastikbehälter aufgeteilt, die unter hohem Druck bei 121°C 20 Minuten lang dampfsterilisiert wurden, um eine flüssige Emulsion zur Transfusion herzustellen. Nach der Sterilisation wurden die Behälter in orientierten Vinylonfilmen (ein Produkt von UNITIKA Co., Ltd.) unter Vakuum verpackt, um das Endprodukt zu ergeben.

Tabelle 1

Fettzusammensetzung in einem gereinigten Sardinenöl

<u>Fett</u>	<u>Gehalt (%)</u>
Kohlenwasserstoff	3,61
Sterylester	6,84
Triglycerid	36,50
freie Fettsäure	46,52
Sterin	6,53

Testbeispiel

Plättchenaggregationshindernde Wirkung

16 männliche Wistar-Ratten mit einem Gewicht von 310 g wurden durch die Halsader katheterisiert. Vier der Tiere wurden täglich während 7 Tagen durch die Halsader 3 Stunden lang mit 12 ml einer handelsüblich erhältlichen flüssigen Emulsion, die 10 w/v % Sojabohnenöl (Kontrolle) enthält, infundiert. Zusätzlich wurde den Tieren 7 Tage lang pro Tag 14 g eines festen pulverförmigen Futters (CE-2; hergestellt von Nihon Clea Co., Ltd.) oral verabreicht. Die übrigen 12 Tiere wurden in drei Gruppen aufgeteilt, und jede Tiergruppe wurde mit 12 ml der flüssigen Emulsion, die nach den Bei-

spielen 1, 2 bzw. 3 erhalten wurde, auf die gleiche Weise wie oben infundiert, 7 Tage lang täglich während 3 Stunden. Den Tieren wurde auch das feste pulverförmige Futter auf gleiche Weise wie oben verabreicht, 7 Tage lang 14 g pro Tag. Ca. 20 Stunden nach der letzten intravenösen Verabreichung durch die Halsader wurde jedes Tier mit 5 % Nembutol anästhesiert, und durch die abdominale Aorta 4,5 ml Blut mit einer 20 g-Nadel in eine Injektionsspritze abgezogen, die 0,5 ml 3,8 %-iges Natriumcitrat enthält. Ein PRP von 500 000 Plättchen/ μ l wurde auf übliche Weise für jede Ratte hergestellt. In eine Küvette wurden 225 μ l des PRP jeder Ratte gegeben. Nach Erwärmen bei 37°C während 5 Minuten wurden zur Küvette 25 μ l Kollagen (750 μ g/ml), ein Aggregationsauslöser, hinzugegeben, und danach die Plättchenaggregation mittels eines Aggregometers gemessen. Wie die Tabelle 2 zeigt, betrugen die durchschnittlichen Werte der Aggregation für die Gruppen, denen die flüssigen Emulsionen der Beispiele 1, 2 und 3 verabreicht wurden, 59,6 %, 54,3 % bzw. 59,4 %. Verglichen mit der Kontrolle, bei der der Wert 68,3 % betrug, war die Plättchenaggregation um einen signifikanten Wert von 5 % (t-Test) deutlich reduziert. Die Ergebnisse von Tests zur akuten Toxizität bei Ratten (männlich) zeigten, daß die flüssigen Emulsionen der Beispiele 1, 2 und 3 völlig sicher sind.

11
- 9 -Tabelle 2

<u>Flüssige Emulsion zur Transfusion</u>	<u>Nr. der ge- testeten Ratte</u>	<u>Plättchen- aggrega- tion (%)</u>	<u>Durchschnitt- liche Aggregation (%)</u>
Beispiel 1	1	59.0	59.6
	2	60.7	
	3	56.8	
	4	61.9	
Beispiel 2	5	57.5	54.3
	6	50.7	
	7	52.0	
	8	56.8	
Beispiel 3	9	54.7	59.4
	10	60.6	
	11	61.9	
	12	60.5	
Kontrolle	13	74.6	68.3
	14	63.9	
	15	70.6	
	16	63.9	

Männlichen Ratten wurden die flüssigen Emulsionen der Beispiele 1, 2 und 3 bzw. der Kontrolle durch die Halsader bei einer Infusionsrate von 50 ml/kg/Std. verabreicht, um die akute Toxizität zu bestimmen. Die Ergebnisse zeigt die Tabelle 3. Wie aus der Tabelle 3 klar ersichtlich ist, sind die erfindungsgemäßen flüssigen Emulsionen zur Transfusion völlig sichere Zubereitungen.

Tabelle 3

<u>Fettemulsion zur Transfusion</u>	<u>Letale Dosis (ml/kg)</u>
Beispiel 1	375
Beispiel 2	362
Beispiel 3	382
Kontrolle	355

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☒ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☐ **FADED TEXT OR DRAWING**

☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.